

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**PRIORITY
DOCUMENT**SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)EPO - Munich
83

11. Juli 2003

REC'D 11 AUG 2003

WIPO

PCT

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung****Aktenzeichen:**

102 29 374.0

Anmeldetag:

29. Juni 2002

Anmelder/Inhaber:november Aktiengesellschaft Gesellschaft für Mole-
kulare Medizin, Erlangen/DE**Bezeichnung:**Vorrichtung und Verfahren zum elektrochemischen
Nachweis**IPC:**

G 01 N 27/403

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**München, den 1. Juli 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Jerofsky

BEST AVAILABLE COPY

Vorrichtung und Verfahren zum elektrochemischen Nachweis

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung und ein Verfahren zum elektrochemischen Nachweis von in einer Flüssigkeit enthaltenen biochemischen Molekülen.

Zur Messung elektrochemischer Potenziale werden nach dem Stand der Technik Potentiostaten mit zwei oder mehreren Arbeitselektroden verwendet. Potentiostaten mit mehreren Arbeitselektroden werden auch als Multipotentiostaten bezeichnet. Solche Multipotentiostaten weisen eine Referenzelektrode, eine Gegenelektrode und mehrere Arbeitselektroden auf. Die Spannung zwischen einer Arbeitselektrode und der Referenzelektrode wird über die zwischen der Gegenelektrode und der jeweiligen Arbeitselektrode anliegende Spannung geregelt. Ein vorgegebener Spannungsverlauf zwischen jeder der Arbeitselektroden und der Referenzelektrode wird für jede Arbeitselektrode separat erzeugt.

Aus der US 5,830,343 ist ein Verfahren bekannt, bei dem mittels eines Multipotentiostaten simultan die über eine Vielzahl von Arbeitselektroden abfallende Spannung gemessen werden kann. Dabei wird jede Arbeitselektrode unabhängig von den anderen mit einem besonderen vorgegebenen Potenzial gegen die Referenzelektrode beaufschlagt. Infolgedessen bilden sich während der Messung zwischen den Arbeitselektroden Potenziale aus. Das macht die Auswertung der an den übrigen Arbeitselektroden gemessenen Ströme kompliziert.

Aus der US 5,149,629 ist ein Verfahren zur elektrochemischen Detektion von in einer Lösung enthaltenen Molekülen bekannt, bei dem sequenziell mit mehreren Arbeitselektroden gemessen

wird. Die Durchführung einer solchen Messung ist zeitaufwändig.

5 Aufgabe der Erfindung ist es, die Nachteile nach dem Stand der Technik zu beseitigen. Es sollen eine Vorrichtung und ein Verfahren angegeben werden, mit denen ein elektrochemischer Nachweis von in einer Flüssigkeit enthaltenen biochemischen Molekülen einfach, kostengünstig und schnell durchführbar ist. Nach einem weiteren Ziel der Erfindung sollen möglichst
10 genaue Messergebnisse erzielbar sein.

15 Diese Aufgabe wird durch die Merkmale der Ansprüche 1 und 13 gelöst. Zweckmäßige Ausgestaltungen ergeben sich aus den Merkmalen der Ansprüche 2 bis 12, 14 und 15.

20 Nach Maßgabe der Erfindung ist eine Vorrichtung zum elektrochemischen Nachweis von in einer Flüssigkeit enthaltenen biochemischen Molekülen vorgesehen mit

25 einem mindestens eine Referenz- und mindestens eine Gegenelektrode sowie eine Vielzahl an Arbeitselektroden aufweisenden Mittel zur Aufnahme der Flüssigkeit,

30 einem Potentiostaten zur Erzeugung eines vorgegebenen Spannungsverlaufs zwischen den Arbeitselektroden und der Referenzelektrode,

wobei jeder der Arbeitselektroden ein Strom-Spannungskonverter nachgeschaltet ist, wobei die Strom-Spannungskonverter
sämtliche Arbeitselektroden auf demselben Potenzial halten
und

einem Mittel zum Messen der durch die Arbeitselektroden fließenden Ströme.

Die vorgeschlagene Vorrichtung ist einfach aufgebaut. Es ist lediglich ein einziger Potentiostat zur Erzeugung eines an sämtliche Arbeitselektroden gleichzeitig angelegten identischen vorgegebenen Spannungsverlaufs erforderlich. Indem sämtliche Arbeitselektroden auf demselben Potenzial gehalten werden, ist es beispielsweise möglich, die durch die Arbeitselektroden fließenden Ströme parallel zu messen. Dazu kann jede der Arbeitselektroden über einen Stromfolger zur individuellen Auswertung der Signale virtuell an der Schaltungsmasse anliegen.

Nach einer vorteilhaften Ausgestaltung sind mehrere miteinander verbundene oder kapazitiv gekoppelte Referenzelektroden vorgesehen. Damit kann die Geschwindigkeit der Messung weiter erhöht werden. In diesem Zusammenhang können auch mehrere miteinander verbundene Gegenelektroden vorgesehen sein.

Zweckmäßigerweise weist das Mittel zum Messen einen Analog-Digital-Wandler auf. Ferner kann ein Multiplexer vorgesehen sein, so dass eine quasi zeitgleiche Messung der durch die Arbeitselektroden fließenden Ströme möglich ist.

Nach einer weiteren Ausgestaltung ist der Strom-Spannungskonverter ein einen ersten Operationsverstärker aufweisender Stromfolger, wobei ein nichtinvertierender Eingang des Operationsverstärkers an der Masse anliegt und dessen invertierender Eingang über einen ersten Widerstand mit dem Ausgang des ersten Operationsverstärkers und mit der Arbeitselektrode verbunden ist. Parallel zum ersten Widerstand kann eine Kapazität geschaltet sein. Sie dient der Rauschunterdrückung.

Zur Einstellung des Strommessbereichs können unterschiedlich große erste Widerstände zwischen dem invertierenden Eingang und dem Ausgang des ersten Operationsverstärkers einschaltbar sein. Damit kann in einfacher Weise der Strommessbereich va-
5 riiert werden.

Nach einer weiteren Ausgestaltung sind die Arbeitselektroden mit zum nachzuweisenden biochemischen Molekül komplementären biochemischen Molekülen beschichtet. Beim nachzuweisenden
10 biochemischen Molekül kann es sich um eine Nukleinsäure und beim komplementären biochemischen Molekül um zur nachzuwei-
senden Nukleinsäure komplementäre Nukleinsäuren handeln. Im Falle einer Hybridisierung solcher Nukleinsäuren ändert sich der Stromverlauf durch die entsprechende Arbeitselektrode.
15 Eine solche Änderung zeigt an, dass in der Lösung eine Nukleinsäure enthalten ist, welche zur an der Arbeitselektrode gebundenen Nukleinsäure komplementär ist. Ein solcher Nach-
weis ist hoch sensitiv und äußerst spezifisch. Bei den biochemischen Molekülen kann es sich auch um synthetische ein-
20 zelsträngige Nukleinsäuren oder deren natürliche und/oder synthetische Analoga, Antigene, Proteine, wie Antikörper, Antikörperfragmente, Derivate von Antikörpern oder Antikörper-
fragmenten, Nukleinsäure-bindende Proteine, Rezeptoren oder Liganden handeln.

25

In weiterer Ausgestaltung weist der Potentiostat einen als Spannungsfolger geschalteten zweiten Operationsverstärker auf, an dessen nicht invertierendem Eingang die Referenzelektrode angeschlossen ist. Der Potentiostat kann ferner einen
30 dritten Operationsverstärker aufweisen, an dessen Ausgang die Gegenelektrode angeschlossen ist, dessen invertierender Eingang über einen zweiten Widerstand mit dem Ausgang des zweiten Operationsverstärkers verbunden und über einen dritten

Widerstand mit einer Einrichtung zur Erzeugung einer wählbaren Sollspannung angeschlossen ist, und wobei der nichtinvertierende Eingang des dritten Operationsverstärkers an der Masse anliegt. Des Weiteren kann zwischen dem Ausgang des dritten Operationsverstärkers und dessen invertierenden Eingang eine Kapazität eingeschaltet sein.

Nach weiterer Maßgabe der Erfindung ist ein Verfahren zum elektrochemischen Nachweis von in einer Flüssigkeit enthaltenen biochemischen Molekülen mit folgenden Schritten vorgesehen:

- a) Bereitstellen eines Mittels zur Aufnahme der Flüssigkeit, wobei das Mittel mindestens eine Gegen- und eine Referenzelektrode sowie eine Vielzahl von Arbeitselektroden aufweist,
- b) Inkontaktbringen der Flüssigkeit mit den Arbeits-, Gegen- und Referenzelektroden,
- c) gleichzeitiges Anlegen eines vorgegebenen Spannungsverlaufs zwischen den Arbeitselektroden und der Referenzelektrode und
- d) Messen der durch die Arbeitselektroden fließenden Ströme, wobei während der Messung sämtliche Arbeitselektroden auf demselben Potenzial gehalten werden.

Die Messung erfolgt quasi zeitgleich. Sie wird zweckmäßigerweise parallel oder mittels Multiplexen durchgeführt. Dabei kann die zwischen den Arbeitselektroden und der Referenzelektrode anliegende Spannung mit einem Potentiostaten geregelt

werden. Das vorgeschlagene Verfahren ist relativ einfach durchführbar.

Bei dem vorgegebenen Spannungsverlauf kann es sich um einen
5 sich während der Messung veränderlichen Spannungsverlauf handeln. Der Spannungsverlauf kann mittels einer programmierbaren Spannungsquelle vorgegeben werden.

Die Elektroden können aus herkömmlichen Materialien, beispielsweise geeigneten Metallen wie Gold, Silber, Platin oder
10 dgl. hergestellt sein. Es ist aber auch möglich, die Elektroden aus Kohlenstoff, insbesondere Grafit, herzustellen. Die Beschichtung der Elektroden erfolgt in herkömmlicher Weise, im Falle von Nukleinsäuren beispielsweise durch Ausbildung
15 von Biotin-Streptavidin-Bindungen.

Ein Ausführungsbeispiel der Erfindung wird anhand der Zeichnung näher erläutert. Es zeigen:

20 Fig. 1 ein schematisches Schaltbild und

Fig. 2 ein mit der Schaltung gemäß Fig. 1 erzielt Mess-
ergebnis.

25 Ein Mittel zur Aufnahme der die nachzuweisenden biochemischen Moleküle enthaltenden Flüssigkeit kann z.B. ein Behälter 1 oder ein Feld auf einer aus einem isolierenden Material hergestellten Fläche, z.B. auf einem Chip, sein. Der Behälter 1 weist Arbeitselektroden AE1, AE2, AE3, eine Gegenelektrode GE
30 sowie eine Referenzelektrode RE auf. Die Elektroden sind z.B. aus Silber, Gold, Platin oder Grafit hergestellt. Jede der Arbeitselektroden AE1, AE2, AE3 ist über eine Strom-

Spannungskonverter S1, S2, S3 mit einer Messvorrichtung AD verbunden.

Die Strom-Spannungskonverter S1, S2, S3 weisen jeweils einen Operationsverstärker OP1 auf, dessen nichtinvertierender Eingang (OP1+) an Schaltungsmasse anliegt. Infolgedessen werden sämtliche Arbeitselektroden AE1, AE2, AE3 auf demselben Potenzial gehalten. Der invertierende Eingang OP1- des ersten Operationsverstärkers OP1 ist mit der Arbeitselektrode AE1, AE2, AE3 und über einen ersten Widerstand R1 mit dem Ausgang verbunden, der wiederum mit der Messvorrichtung AD in Verbindung steht. Zur Rauschunterdrückung kann parallel zum ersten Widerstand R1 eine (hier nicht gezeigte) Kapazität geschaltet sein. Es können unterschiedlich große erste Widerstände R1 vorgesehen sein, welche alternativ einschaltbar sind. So kann auf einfache Weise der Messbereich geändert werden.

Mit dem Bezugszeichen P ist ein Potentiostat bezeichnet, dessen Eingang mit einer (hier nicht gezeigten) programmierbaren Spannungsquelle verbunden ist. Der Potentiostat P umfasst einen als Spannungsfolger geschalteten zweiten Operationsverstärker OP2 und einen dritten Operationsverstärker OP3. Der nichtinvertierende Eingang OP2+ des zweiten Operationsverstärkers OP2 ist an die Referenzelektrode RE angeschlossen. Der invertierende Eingang OP2- des zweiten Operationsverstärkers OP2 ist mit dessen Ausgang und über einen zweiten Widerstand mit dem invertierenden Eingang OP3- des dritten Operationsverstärkers OP3 verbunden. Der nichtinvertierende Eingang OP3+ des dritten Operationsverstärkers liegt an Schaltungsmasse. Die (hier nicht gezeigte) programmierbare Spannungsquelle ist über einen dritten Widerstand R3 mit dem invertierenden Eingang OP3- des dritten Operationsverstärkers OP3 sowie dem zweiten Widerstand OP2 verbunden. Der Ausgang

des dritten Operationsverstärkers OP3 ist mit der Gegenelektrode GE verbunden. Zwischen dem Ausgang des dritten Operationsverstärkers OP3 und dessen invertierenden Eingang kann eine (hier nicht gezeigte) weitere Kapazität eingeschaltet sein.

Bei der Messvorrichtung AD kann es sich um einen Analog-Digital-Wandler mit Multiplexer handeln. Das ermöglicht eine quasi zeitgleiche Messung der durch die Arbeitselektroden AE1, AE2, AE3 fließenden Ströme.

Indem die Referenzelektrode RE an den nichtinvertierenden Eingang OP2+ des zweiten Operationsverstärkers OP2 angeschlossen ist, erhält man einen Spannungsfolger mit einer sehr hohen Eingangsimpedanz. Ein durch die Referenzelektrode RE fließender Elektrolysestrom wird damit wirkungsvoll unterbunden. Infolgedessen wird eine besonders genaue Messung erreicht.

Der mit der Gegenelektrode GE verbundene Ausgang des dritten Operationsverstärkers OP3 wird im Betrieb so angesteuert, dass zwischen dessen Eingängen OP3-, OP3+ keine Spannung anliegt. Der nichtinvertierende Eingang OP3+ des dritten Operationsverstärkers OP3 liegt an Schaltungsmasse an. Infolgedessen liegt auch der invertierende Eingang OP3- virtuell auf Masse und damit auf demselben Potenzial wie die Arbeitselektroden AE1, AE2, AE3. Bei geeigneter Regelung ist der durch den dritten Widerstand R3 fließende Strom gleich dem durch den zweiten Widerstand R2 fließenden Strom. Da die Spannung über dem zweiten Widerstand R2 dem Betrag nach gleich der Spannung zwischen der Referenzelektrode RE und den Arbeitselektroden AE1, AE2, AE3 ist, kann das Potenzial der Arbeitselektroden AE1, AE2, AE3 gegen die Referenzelektrode RE durch

eine proportionale Spannung am Eingang U des Potentiostaten P vorgegeben werden. In der Praxis wird zweckmäßigerweise der zweite Widerstand R2 gleich dem dritten Widerstand R3 gewählt, wodurch die Proportionalitätskonstante auf den Wert -1 festgelegt wird. Alternativ kann in diesem Fall eines addierenden Potentiostaten P der dritte Widerstand R3 durch mehrere Widerstände ersetzt werden, wodurch mehrere Eingänge, z.B. zur Modulation, erhalten werden.

10 Nach einer Variation an der Schaltung ist es möglich, die Strom-Spannungskonverter S1, S2, S3 im Frequenzgang zu beschränken. Dadurch kann das Gesamttrauschen vermindert werden. Eine solche Beschränkung im Frequenzgang kann durch Kondensatoren erreicht werden, die jeweils parallel zum ersten Widerstand R1 geschaltet werden. Zur Vergrößerung des Strommessbereichs kann es von Vorteil sein, die ersten Widerstände R1, ggf. mit dazu parallel geschalteten Kondensatoren, mittels Relais oder analoger elektronischer Schalter oder einer Kombination der beiden schaltbar auszuführen.

20 Fig. 2 zeigt das Ergebnis von mit der erfindungsgemäßen Schaltung durchgeführten Messungen. Dazu sind unbeschichtete Arbeitselektroden mit einer DNA enthaltenden Lösung in Kontakt gebracht worden. Die Messung ist erfolgt mittels Differenzialpulsvoltammetrie. Aufgetragen in Fig. 2 ist über der Spannung die an der Arbeitselektrode gemessene Stromdifferenz jeweils vor und nach einer Spannungsmodulation. Der linke Peak zeigt die Oxidation von Guanin von an der Arbeitselektrode adsorbierter DNA. Der rechte Peak zeigt die Oxidation von Adenin. Es sind die Ergebnisse aufgetragen welche durch Messung an einer ersten Arbeitselektrode AE1 und an einer zweiten Arbeitselektrode AE2 gewonnen worden sind.

Die vorliegende Messung zeigt lediglich einen unspezifischen Nachweis von DNA in einer Lösung. Bei einer geeigneten Beschichtung der Arbeitselektroden ist es im Rahmen der Erfindung möglich, spezifisch vorgegebene DNA oder dgl. in einer
5 Lösung nachzuweisen. Die Anzahl der spezifisch nachzuweisenden DNA-Sequenzen oder dgl. hängt ab von der Anzahl der verwendeten Arbeitselektroden.

Bezugszeichenliste

1	Behälter
OP1, 2, 3	erster, zweiter, dritter Operationsverstärker
5 P	Potentiostat
S1, 2, 3	erster, zweiter, dritter Strom-Spannungskon- verter
R1, 2, 3	erster, zweiter, dritter Widerstand
AD	Messvorrichtung
10 AE1, 2, 3	Arbeitselektroden
GE	Gegenelektrode
RE	Referenzelektrode
U	Ausgang einer programmierbaren Spannungsquelle

Patentansprüche

1. Vorrichtung zum elektrochemischen Nachweis von in einer Flüssigkeit enthaltenen biochemischen Molekülen mit
5 einem mindestens eine Referenz- (RE) und mindestens eine Gegenelektrode (GE) sowie einer Vielzahl an Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) aufweisenden Mittel (1) zur Aufnahme der Flüssigkeit,
10 einem Potentiostaten (P) zur Erzeugung eines vorgegebenen Spannungsverlaufs zwischen den Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) und der Referenzelektrode (RE),
15 wobei jeder der Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) ein Strom-Spannungskonverter (S1, S2, S3) nachgeschaltet ist, wobei die Strom-Spannungskonverter (S1, S2, S3) sämtliche Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) auf demselben Potenzial halten, und
20 einem Mittel (AD) zum Messen der durch die Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) fließenden Ströme.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, wobei mehrere miteinander verbundene oder kapazitiv gekoppelte Referenzelektroden (RE)
25 vorgesehen sind.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, wobei mehrere miteinander verbundene Gegenelektroden (GE) vorgesehen sind.
- 30 4. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Mittel (AD) zum Messen einen Analog-Digital-Wandler aufweist.

5. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Strom-Spannungskonverter (S1, S2, S3) ein ersten Operationsverstärker (OP1) aufweisenden Stromfolger ist, wobei ein nichtinvertierender Eingang (OP1+) des ersten Operationsverstärkers (OP1) an Masse anliegt und dessen invertierender Eingang (OP1-) über einen ersten Widerstand (R1) mit dem Ausgang des ersten Operationsverstärkers (OP1) und mit der Arbeitselektrode (AE1) verbunden ist.
- 10 6. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei parallel zum ersten Widerstand (R1) eine Kapazität geschaltet ist.
- 15 7. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei zur Einstellung des Strommessbereichs unterschiedlich große erste Widerstände (R1) zwischen den invertierenden Eingang (OP1-) und den Ausgang des ersten Operationsverstärkers (OP1) einschaltbar sind.
- 20 8. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) mit zum nachzuweisenden biochemischen Molekül komplementären biochemischen Molekülen beschichtet sind.
- 25 9. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das nachzuweisende biochemische Molekül eine Nukleinsäure und die komplementären biochemischen Moleküle zur nachzuweisenden Nukleinsäure komplementäre Nukleinsäuren sind.
- 30 10. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der Potentiostat (P) einen als Spannungsfolger geschalteten zweiten Operationsverstärker (OP2) aufweist, an dessen

nichtinvertierendem Eingang (OP2+) die Referenzelektrode (RE) angeschlossen ist.

11. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei bei der Potentiostat (P) einen dritten Operationsverstärker (OP3) aufweist, an dessen Ausgang die Gegenelektrode (GE) angeschlossen ist, dessen invertierender Eingang (OP3-) über einen zweiten Widerstand (R2) mit dem Ausgang des zweiten Operationsverstärkers (OP2) verbunden und über einen dritten Widerstand (R3) an einer Einrichtung zur Erzeugung einer wählbaren Sollspannung angeschlossen ist, und wobei der nichtinvertierende Eingang (OP3+) des dritten Operationsverstärkers (OP3) an Masse anliegt.
12. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei zwischen dem Ausgang des dritten Operationsverstärkers (OP3) und dessen invertierenden Eingang (OP3-) eine Kapazität eingeschaltet ist.
13. Verfahren zum elektrochemischen Nachweis von in einer Flüssigkeit enthaltenen biochemischen Molekülen mit folgenden Schritten:
- a) Bereitstellen eines Mittels (1) zur Aufnahme der Flüssigkeit, wobei das Mittel (1) mindestens eine Gegen- (GE) und eine Referenzelektrode (RE) sowie eine Vielzahl von Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) aufweist,
 - b) Inkontaktbringen der Flüssigkeit mit den Arbeits- (AE1, AE2, AE3), Gegen- (GE) und Referenzelektroden (RE),

c) gleichzeitiges Anlegen eines vorgegebenen Spannungsverlaufs zwischen den Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) und der Referenzelektrode (RE) und

5 d) Messen der durch die Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) fließenden Ströme, wobei während der Messung sämtliche Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) auf demselben Potenzial gehalten werden.

10 14. Verfahren nach Anspruch 13, wobei das Messen parallel oder mittels Multiplexen durchgeführt wird.

15 15. Verfahren nach einem der Ansprüche 13 oder 14, wobei die zwischen den Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) und der Referenzelektrode (RE) anliegende Spannung mit einem Potentiostaten (P) geregelt wird.

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zum elektrochemischen Nachweis von in einer Flüssigkeit enthaltenen biochemischen Molekülen mit

einem mindestens eine Referenz- (RE) und mindestens eine Gegenelektrode (GE) sowie einer Vielzahl an Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) aufweisenden Mittel (1) zur Aufnahme der Flüssigkeit,

einem Potentiostaten (P) zur Erzeugung eines vorgegebenen Spannungsverlaufs zwischen den Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) und der Referenzelektrode (RE),

wobei jeder der Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) ein Strom-Spannungskonverter (S1, S2, S3) nachgeschaltet ist, wobei die Strom-Spannungskonverter (S1, S2, S3) sämtliche Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) auf demselben Potenzial halten, und

einem Mittel (Ad) zum Messen der durch die Arbeitselektroden (AE1, AE2, AE3) fließenden Ströme.

Fig. 1

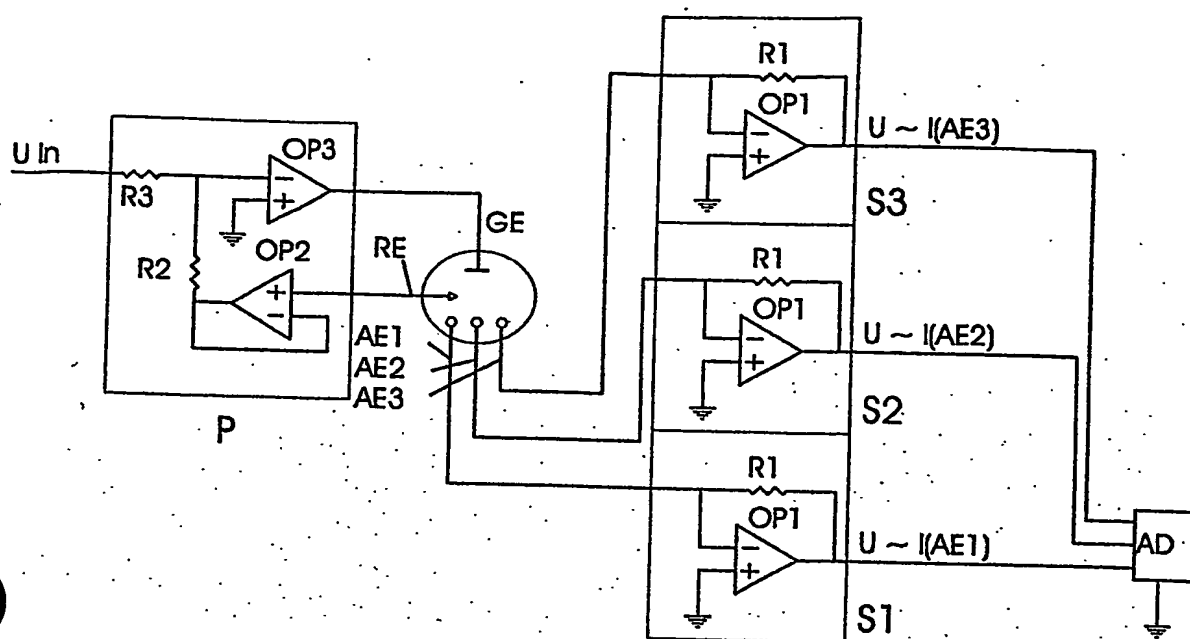


Fig. 1

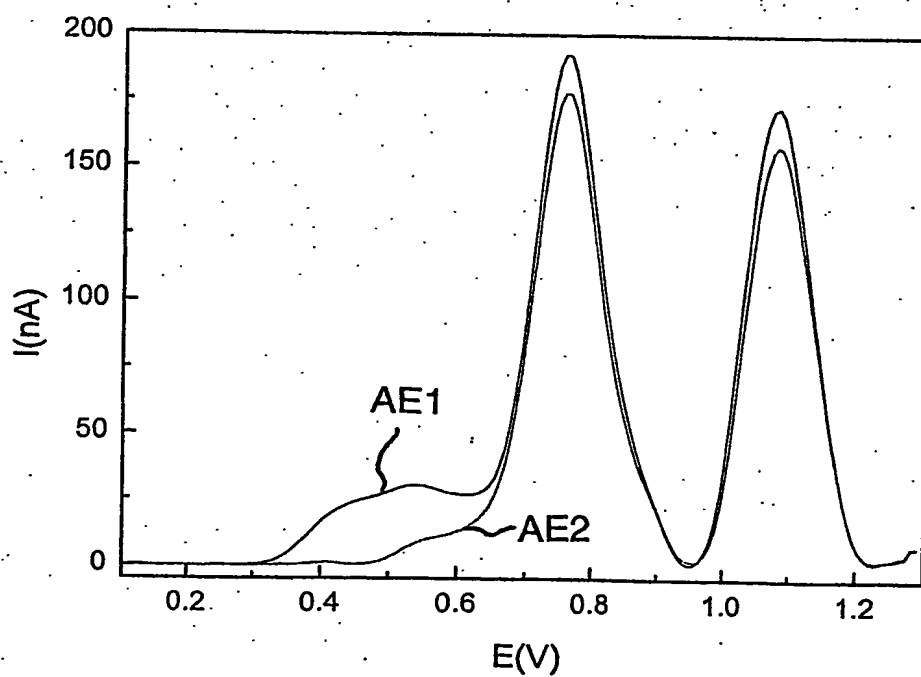


Fig. 2

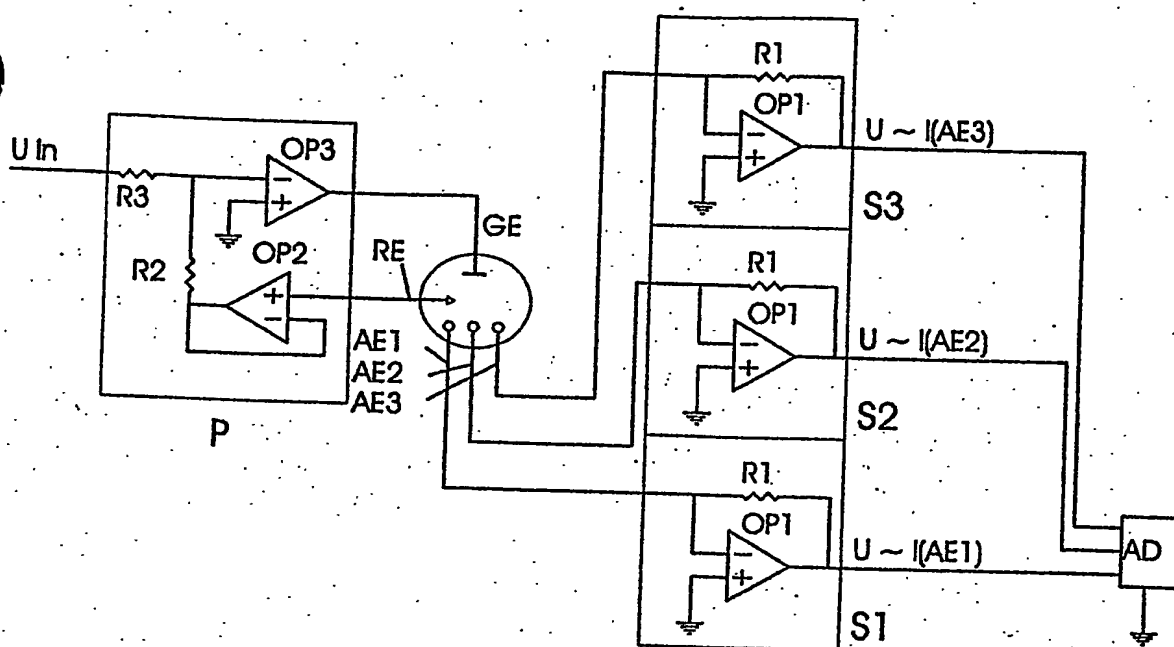


Fig. 1

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.